



**UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO**

**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS**

**ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE MEDICINA**

**EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Salvia officinalis* “salvia” SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC25923 COMPARADO CON OXACILINA**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
MÉDICO CIRUJANO**

**AUTOR:**

**VÍCTOR ESPINOZA GÓMEZ**

**ASESORES:**

**DRA. LLAQUE SÁNCHEZ MARÍA ROCÍO DEL PILAR**

**MG. BLGO. POLO GAMBOA JAIME ABELARDO**

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN**

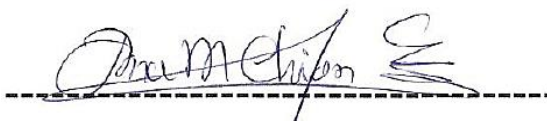
**ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRANSMISIBLES**

**TRUJILLO - PERÚ**

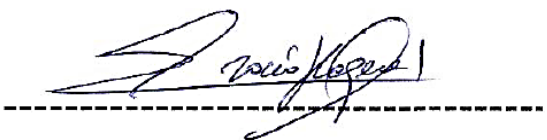
**2018**

**PÁGINA DEL JURADO**

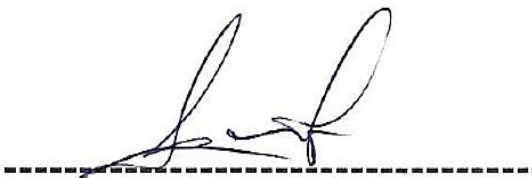
**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Salvia officinalis* “salvia” SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC25923  
COMPARADO CON OXACILINA**



**DRA. ANA MARÍA CHIAN GARCÍA  
PRESIDENTE DEL JURADO**



**DRA. MARÍA ROCÍO DEL PILAR LLAQUE SÁNCHEZ  
SECRETARIA DEL JURADO**



**MG. BLGO. JAIME ABELARDO POLO GAMBOA  
VOCAL DEL JURADO**

Trujillo, diciembre del 2018

## DEDICATORIA

*Se lo dedico a mi madre Ynés Gómez Abarca, una gran mujer quien me dio la vida y siempre me apoya y motiva en este largo camino. Madre todos mis logros son tuyos; te amo.*

*A mi padre Mg. Raúl Espinoza Amanqui, una gran persona quien me apoya y guía en este largo camino.*

*A mi abuelita Candelaria Abarca De Gómez, quien está en el cielo y siempre está presente en mí, me dio su amor incondicional, este logro es por ti mamá Katy.*

*A mis hermanos: Raúl, Inés, Maricielo y a mi tía Haydee quienes siempre me apoyan incondicionalmente en lograr mis metas.*

VÍCTOR ESPINOZA GÓMEZ

## **AGRADECIMIENTO**

### **A DIOS**

Por guiar mis pasos y estar siempre cuando más lo necesito y ser parte de mi vida.

**A mis asesores:** Dra. María Rocío Del Pilar Lláque Sánchez, Mg. Blog. Jaime A. Polo Gamboa y Dr. Hurtado Escamilo Steve Tony, quienes me guiaron y contribuyeron en la realización de este proyecto.

**A MIS FAMILIARES** quienes confiaron en mí y me apoyaron en este largo camino.

### **A LA UNIVERSIDAD**

Por ser el lugar donde me enseñaron e inculcaron a ser un gran profesional.

**VÍCTOR ESPINOZA GÓMEZ**

## PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada: **EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Salvia officinalis* “salvia” SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC25923 COMPARADO CON OXACILINA**, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para el título Profesional de Médico Cirujano.

(EL AUTOR)

## INDICE

<b>PÁGINAS PRELIMINARES</b>	<b>Pág.</b>
<b>PÁGINA DEL JURADO</b> .....	i
<b>DEDICATORIA</b> .....	ii
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	iii
<b>DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD</b> .....	iv
<b>PRESENTACIÓN</b> .....	v
<b>INDICE</b> .....	vi
<b>RESUMEN</b> .....	vii
<b>ABSTRACT</b> .....	viii
<b>I. INTRODUCCION</b> .....	1
1.1 REALIDAD PROBLEMÁTICA .....	1
1.2 TRABAJOS PREVIOS .....	2
1.3 TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA .....	5
1.4 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA .....	12
1.5 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO .....	12
1.6 HIPÓTESIS .....	13
1.7 OBJETIVOS .....	13
1.7.1 OBJETIVO GENERAL .....	13
1.7.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	13
<b>II. MÉTODO</b> .....	14
2.1 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN Y TIPO DE INVESTIGACIÓN .....	14
2.2 VARIABLES Y OPERALIZACIÓN .....	14
2.3 POBLACIÓN Y MUESTRA .....	16
2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD .....	17
2.5 MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS .....	18
2.6 ASPECTOS ÉTICOS .....	18
<b>III. RESULTADOS</b> .....	19
<b>IV. DISCUSIÓN</b> .....	21
<b>V. CONCLUSIONES</b> .....	23
<b>VI. RECOMENDACIONES</b> .....	24
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	25
<b>VIII. ANEXOS</b> .....	30

## RESUMEN

Se realizó un estudio experimental in vitro con el objetivo de evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de *Salvia officinalis* “salvia” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina a 1µg. Se realizaron en cuatro diluciones (100%, 75%, 50% y 25%), un control positivo con oxacilina (1µg) y un control neutro con DMSO; se aplicó el método Kirby-Bauer (discos de difusión) en agar Mueller-Hinton en 13 placas Petri con un total de 65 observaciones. Se obtuvo que el extracto etanólico de *Salvia officinalis* mostró halos de inhibición en todas las diluciones, sin embargo, a partir de la dilución al 75% muestra un halo de inhibición de 13.69mm (DS: 0.480±0.133, IC95%:13.40-13.98); y al 100% con 15.62mm (DS:0.650±0.180, IC95%:15.22-16.01), valores considerados como eficaces en relación al patrón del CLSI ( $\geq 13$  mm). No obstante, son menos eficaces que la oxacilina con 27.85mm (DS:0.899±0.249, IC95%:27.30-28.39). El análisis estadístico ANOVA fue altamente significativo (0.000), al igual que la prueba de Tukey demostró que los grupos evaluados eran homogéneos y el grupo con mayor halo de inhibición fue para oxacilina, seguido de los extractos etanólicos al 100% y 75% de la planta en estudio, evidenciándose que a mayor concentración el halo inhibitorio aumenta. Se concluye que el extracto etanólico de la hoja de *Salvia officinalis* si tiene efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pero menor que oxacilina, pudiendo utilizarse como un medicamento coadyuvante en el tratamiento de enfermedades producidas por *S. aureus*.

**Palabras claves:** Extracto etanólico, *Salvia officinalis*, *Staphylococcus aureus*, efecto antibacteriano

## ABSTRACT

An experimental in vitro study was undertaken to evaluate the antibacterial effect of ethanol extract of the leaf of *Salvia officinalis* “sage” on strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 compared with oxacillin at 1µg. Four dilutions of 100%, 75%, 50% and 25%, plus a positive control with oxacillin (1µg) and a neutral control with DMSO were tested using Kirby-Bauer method with diffusion discs applied to Mueller-Hinton agar in 13 Petri-dishes, with a total of 65 observations. Ethanol extract of *Salvia officinalis* showed zones of inhibition in all dilutions; however, at 75% dilution it had a zone of inhibition of 13.69mm (DS: 0.480±0.133, IC95%:13.40-13.98); and at 100% dilution it had a zone of inhibition of 15.62mm (DS: 0.650±0.180, IC95%:15.22-16.01) values considered as effective in relation to the CLSI pattern (≥13 mm). However, they are less effective than oxacillin with 27.85mm (DS: 0.899±0.249, IC95%:27.30-28.39). ANOVA statistical analysis was highly significant (0.000), Tukey-test showed that the groups evaluated were homogeneous and the group with the highest zone of inhibition was of oxacillin, followed by ethanolic extracts at 100% and 75% of the plant studied, showing that the higher the concentration, the zone of inhibition increases. It is concluded that ethanol extract of *Salvia officinalis* leaf has antibacterial effect on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, but less than oxacillin, enabling use as an adjunct medicine in the treatment of diseases produced by *S. aureus*.

**Keywords:** Ethanolic extract, *Salvia officinalis*, *Staphylococcus aureus*, antibacterial effect.



## **I. INTRODUCCION**

### **1.1 REALIDAD PROBLEMÁTICA**

Las enfermedades infecciosas según la OMS son la tercera causa de muerte en países subdesarrollados, alcanzando una prevalencia de 36% por cada 100.000 personas en Latinoamérica, que responden al incremento de bacterias multirresistentes como *S. aureus*, el cual se ha convertido en un fenómeno biológico natural que ha ido aumentando con los años, permitiendo que cada vez que se pone un nuevo antimicrobiano, la bacteria genere nuevos mecanismos de resistencia.<sup>1</sup>

Los *Staphylococcus* se encuentran entre las bacterias no esporuladas más resistentes que pueden sobrevivir en situaciones de ambiente no fisiológicas. El *S. aureus*, es uno de los agentes patógenos más importante de su género en el ser humano, puesto que produce infecciones en la piel, tejidos blandos o procesos invasivos a distancia (sepsis), a pesar de la existencia de antibióticos potentes, que mejoran la salubridad y las medidas de control contra las infecciones.<sup>2</sup>

La Organización Panamericana de la Salud (OPS) reportó que de 14 países latinoamericanos que presentan resistencia a meticilina (SAMR), Perú tiene el mayor porcentaje 72% seguido de Guatemala 66%, Bolivia 61%, Cuba 53%, el cual está relacionado al tratamiento inadecuado de las infecciones nosocomiales; generando preocupación en América Latina.<sup>3</sup>

En nuestro país este resultado se debe al uso indiscriminado de medicamentos además un 58% de pacientes se automedican con antibióticos; debido a este sombrío panorama es que se ha empezado a utilizar medicina alternativa con el fin de disminuir la resistencia antimicrobiana.<sup>4</sup>

Las propiedades antimicrobianas de los extractos han sido reconocidas durante muchos años como agentes antimicrobianos naturales, se han aplicado a la conservación de alimentos, la farmacología, la botánica farmacéutica, la fitopatología, la microbiología médica y la clínica. Además, los extractos de algunas especies de salvia han exhibido una actividad antimicrobiana moderada a alta, especialmente para *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis* y *S. aureus* con altas zonas de inhibición. Así mismo se han identificado cinco componentes principales de la planta, incluidos el 1, 8-cineol,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno,  $\beta$ -cariofileno y carvacrol entre otros.<sup>5</sup>

## 1.2 TRABAJOS PREVIOS

**Et-touys A. et al (Marruecos, 2016)** estudiaron el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Salvia officinalis* sobre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*, mediante la técnica de difusión en discos de agar. Los resultados encontrados para *Escherichia coli* fue un halo de  $11 \pm 0.89$  mm, para *Staphylococcus aureus* un halo de  $19 \pm 0.24$  mm y para *L. monocytogenes* un halo de  $19 \pm 1.84$  mm, estos tres grupos bacterianos fueron comparados con Glucantime como control positivo. Los autores concluyeron que, dada la gran preocupación de la resistencia a los antibióticos y el control de plagas, se encontró que estos resultados respaldan el hecho de que el uso de *S. officinalis* es valioso y podría ser una fuente de compuestos bioactivos y una alternativa para el tratamiento de enfermedades infecciosas causadas por *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*.<sup>6</sup>

**Tofana M. et al (Rumania, 2016)** estudiaron la actividad antibacteriana de *Salvia officinalis* con un previo procesamiento de maceración con etanol a diferentes concentraciones sobre *Escherichia coli* ATCC-25922, *Staphylococcus aureus* ATCC-6538P y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-27853 mediante el método de Kirby-Bauer, así mismo utilizaron como control positivo Gentamicina. Los resultados encontrados para *E. coli*

fueron  $10.76 \pm 0.15$  mm, para *S. aureus* un halo de  $16.48 \pm 0.04$  mm y para *P. aeruginosa* un halo de  $9.53 \pm 0.03$  mm. Concluyeron que el extracto etanólico de *Salvia officinalis* tiene mejor efecto antibacteriano en cepas Gram positivas que las Gram negativas.<sup>7</sup>

**Khedher S. et al (Túnez, 2016)** determinaron el efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Salvia officinalis* a diferentes concentraciones por el método de difusión en agar sobre bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, así mismo utilizaron como control positivo Gentamicina. Los resultados encontrados para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fue un halo de  $14 \pm 1.41$  mm, para *Bacillus cereus* ATCC 14579 un halo de  $12 \pm 0.0$  mm, para *Escherichia coli* un halo de  $12 \pm 0.7$  mm y finalmente para *Micrococcus luteus* ATCC 1880 un halo de  $25 \pm 1.41$  mm. Los autores concluyeron que la *Salvia officinalis* tiene efecto inhibitorio significativo sobre patógenos Gram positivos que los Gram negativos.<sup>8</sup>

**Ghezlbash G. et al (Irán, 2015)** determinaron el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Salvia officinalis* mediante la técnica de difusión en discos de agar a diferentes concentraciones sobre patógenos Gram positivos y Gram negativos. Los resultados encontrados para *E. coli* fueron un halo de inhibición de 9 mm, para *S. aureus* un halo de 10 mm y para *Bacillus cereus* un halo de 8 mm. Los autores concluyeron que el extracto etanólico de *S. officinalis* tiene buen efecto antibacteriano.<sup>9</sup>

**Mosafa E. et al (Irán, 2014)** identificaron la actividad antibacteriana del extracto de *Salvia officinalis* a diferentes concentraciones en patógenos bacterianos Gram positivos y Gram negativos mediante la técnica de difusión en discos de agar, así mismo en dicho estudio utilizaron como control positivo a ampicilina. Los resultados encontrados fueron expresados en halos de inhibición, donde se encontró para *Staphylococcus aureus* un halo de 13.4 mm a una concentración de 400 mg/ml, para

*Escherichia coli* un halo de 9.3 mm a una concentración de 400 mg/ml y para *P. aeruginosa* un halo de 7 mm a una concentración de 100 mg/ml. Concluyendo que existe un mayor efecto inhibitorio sobre cepas Gram positivas que Gram negativas.<sup>10</sup>

**Ardalan A. Shaabani M. (Irán, 2012)** estudiaron el efecto antibacteriano y antimicótico de *Salvia officinalis* mediante la técnica de difusión en discos de agar a diferentes concentraciones, sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Candida Albicans* ATCC 10231, en dicho estudio utilizaron como control positivo a Oxacilina y Ketoconazol. Los resultados encontrados para *Staphylococcus aureus* fue un halo de 18 mm a una concentración de 12.5 µg /ml y para *Candida albicans* fue de 16 mm a una concentración de 12.5 µg /ml. Los autores concluyeron que *Salvia officinalis* es una de los pocos vegetales con actividad antibacteriana extendida en hongos y bacterias.<sup>11</sup>

### 1.3 TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA

Las salvias incluyen a un conjunto de plantas, de cuyo nombre deriva la denominación “salvado” por sus propiedades curativas o panacea. Se tienen 900 especies del orden lámiales de la familia Lamiaceae. Son vegetales herbáceos con tallos tetragonos, hojas simples, decusadas sin estipulas y con inflorescencias, que tienen 5 sépalos y 5 pétalos, aromáticas y ornamentales. La *Salvia officinalis*, de origen mediterráneo, crece de forma espontánea, como arbusto con hojas lanceoladas, que desecadas son empleadas como droga desecada, y las flores de color azul-violeta.<sup>12</sup>

La composición de la salvia es heterogénea por sus abundantes metabolitos terpénicos de sus aceites esenciales, diterpenos y triterpenos. Además, tienen abundantes compuestos fenólicos: flavonoides y ácidos fenólicos. La *Salvia officinalis*, tiene: aceite (0.8%-2.5%), taninos condensados (3-7%), ácidos fenólicos, flavonoides, glucósidos del timol, mentol, fitosteroles, entre otros. Componentes predominantes del aceite esencial son cetonas como la Alfa tuyona y la beta tuyona, y el alcanfor.<sup>12,13</sup>

El análisis químico del aceite de hojas frescas de *Salvia officinalis* obtenida por hidrodestilación usando un aparato clevenger, identifico 47 elementos de acuerdo a los índices cromatógrafos de retención y de masa espectral, correspondiendo a los compuestos presentes un 94.90%. El constituyente más importante del aceite fue el alfa tuyona (40.90%), el alcanfor (26.12%), el alfa pineno (5.85%).<sup>12,14</sup>

Las hojas muestran actividad antibacteriana, fungistática, virostática; astringente e inhibidora de la sudoración. La actividad espasmolítica del aceite esencial es debido al alcanfor, acetato de bornilo y extracto hidroalcohólico, siendo capaz de impedir las concentraciones inducidas por serotonina y actina. También se ha corroborado en animales de laboratorio,

el efecto anti inflamatorio del extracto de salvia debido a la presencia de extractos triterpénicos como el ácido ursólico, así como su actividad antiséptica. El aceite esencial posee actividad antibacteriana contra *E. coli*, *S. sonei*, distintas especies de *Salmonella* y *Shigella*, *Candida* y algunos virus de la estomatitis. Los extractos acuosos en cambio, son antisépticos por sus componentes fenólicos, especialmente el ácido rosmarinico.<sup>12,15</sup>

La FDA no regula de manera estricta a hierbas y extractos, y no otorga garantías al respecto a su actividad, pureza o seguridad de ellos, cuyos efectos podrían variar.<sup>16</sup>

*Staphylococcus aureus* es un coco Gram-positivo, del género de Staphylococcus, de 0,5 a 1,7  $\mu$ m de diámetro. Aparecen en forma individual, en pares, en cadenas cortas o en racimos. El término Staphylococcus procede del griego staphyle (racimo de uvas). La formación arracimada se facilita si se cultiva en medio sólido, como ocurre en cepas de laboratorio. Se caracteriza por rápido crecimiento sobre agar sangre y otros medios sólidos no selectivos. Las colonias individuales son lisas, opacas y convexas, con un diámetro de 1 a 3 mm en las primeras 24 horas de cultivo.<sup>17</sup>

En ciertas condiciones, la pigmentación cremoso-amarillenta o dorada clásica, causada por los carotenoides, no se distingue con facilidad. La producción de pigmento puede estimularse mediante una incubación adicional a temperatura ambiente y luz diurna durante 24-48 horas. Las colonias son beta-hemolíticas; casi todas las cepas producen hemólisis dentro de las 24 a 36 horas en placas de agar sangre, y cuando están encapsulados, éstas adoptan una apariencia mucosa.<sup>17</sup>

Dado que las infecciones causadas por *S. aureus* son principalmente endógenas, la colonización del huésped es fundamental en la epidemiología del microorganismo. El vestíbulo anterior de las fosas nasales es su reservorio principal, pero otras son la piel, el área perineo y la faringe, y menos frecuentes el tubo digestivo, la vagina o las axilas. La

prevalencia de colonización en adultos sanos es 20-40%. Los estudios longitudinales distinguen tres patrones de colonización nasal por *S. aureus* en personas sanas: portador crónico, portador intermitente o transitorio, y no portador.<sup>18</sup>

Aproximadamente un 20% son portadores nasales persistentes de *S. aureus*; el 30% son portadores intermitentes o transitorios (rango 16-70%) y un 50% son no portadores (rango 16-69%). Los amplios rangos encontrados en los no portadores y portadores transitorios son el resultado del empleo de diferentes técnicas de cultivo, las distintas poblaciones estudiadas y el uso de disímiles criterios para definirlos. Aunque son necesarios por lo menos siete cultivos de muestras nasales para diferenciar entre “no portador” o “portador intermitente”, aunque a más cultivos nasales se realicen, mayor es la oportunidad de identificar al portador intermitente.<sup>18</sup>

Se piensa que los determinantes básicos para la colonización persistente y transitoria son diferentes. Los portadores persistentes normalmente se colonizan por una cepa única durante un largo período de tiempo, mientras que los intermitentes lo hacen por diferentes cepas a lo largo de aquel tiempo. Además, el nivel de colonización por *S. aureus* es mayor entre los portadores persistentes, lo que da lugar a un aumento de la dispersión y un mayor riesgo de infección.<sup>19</sup>

Algunas cepas de *S. aureus* producen proteínas extracelulares adicionales: toxinas alfa, beta, delta y gamma (hemólisis); leucocidina (degranulación de polimorfonucleares y liberación de mediadores de inflamación); toxinas exfoliativas (destrucción de desmosomas de estrato granuloso de piel y síndrome de piel escaldada); enterotoxinas (eméticas y toxoinfección alimentaria); toxina del síndrome del shock tóxico (liberación por macrófagos de citocinas y linfocitos T).<sup>20</sup>

Las infecciones por invasión pueden producirse por cepas de *S. aureus* residentes y no residentes. La primera fase es la adherencia y colonización del huésped. Existen tres tipos de adherencia. Una forma es la adherencia a las células de la mucosa nasal mediada por los ácidos teicoicos y a la mucosa nasofaríngea mediada por la mucina; una segunda forma, es la adhesión a piel traumatizada, a objetos extraños y estructuras subendoteliales, mediada por fibronectina, fibrinógeno, elastina, colágeno, que interactúan con receptores de *S. aureus*. Por último, la adhesión del *S. aureus* a células endoteliales durante la sepsis, mediante proceso que incluye fibronectina, el fibrinógeno y la laminina.<sup>21</sup>

Luego que las bacterias avanzan la primera barrera, llegan al tejido submucoso o subcutáneo y se diseminan, formando abscesos, y donde el SIRS contribuye a su formación, siendo la inmunidad innata la respuesta más importante mediante los polimorfonucleares. En ocasiones, el patógeno puede seguir con su diseminación, hacia áreas más profundas y avasculares. Una vez dispuestos alrededor o dentro de estructuras óseas, o protegidos dentro de coágulos, generan resistencia a los antibióticos, cirugía y por los componentes de defensa del huésped. Sólo la virulencia bacteriana unida a la falla de las estrategias de defensa puede facilitar para que los microbios invadan la sangre y se dispersen por todo el organismo y producir abscesos en todo el cuerpo. Las razones que conducen a septicemia y el óbito no son bien conocidos, los ácidos teicoicos y el peptidoglicano pudieran actuar de manera similar a la endotoxina Gram-negativa. Además, *S. aureus* puede producir infecciones como neumonía, osteomielitis, bursitis, artritis y otras.<sup>22</sup>

Las endotoxinas, producen infección como consecuencia de liberación de sus toxinas, que pueden ejercer su acción a cierta distancia del foco infeccioso, existiendo varios cuadros clínicos como el síndrome de piel escaldada, el síndrome del shock tóxico y las intoxicaciones alimentarias.<sup>23</sup>

El Síndrome de piel escaldada, se debe a la producción de su toxina, la cual pasa a la sangre, pudiendo diseminarse hasta lugares alejados sin



presencia de germen alguno. La toxina produce ampollas seguido de descamación de la epidermis, que puede estar ubicada en un punto, en una gran extensión o en todo el cuerpo. Se observan comúnmente en recién nacidos y pequeños niños. El Shock tóxico es una condición grave asociada al uso de tampones vaginales, en donde proliferan las bacterias que produce la toxina que conduce al shock tóxico. Las manifestaciones están caracterizadas por fiebre, hipotensión, exantema cutáneo en manos y pies, grados variables de vómitos, diarrea, falla renal, cefalea y conjuntivitis, las cuales evolucionan al shock grave en 48 horas.<sup>24</sup>

Las Intoxicaciones alimentarias se generan por alimentos contaminados con valioso contenido en proteínas e hidratos de carbono y con pH > 5, que permiten un rápido crecimiento bacteriano. La deficiente conservación mediante la refrigeración hace que aumente el crecimiento del germen, y si es una cepa que libera enterotoxina, generan intoxicación. Su periodo de incubación es de 1 a 6 horas y la sintomatología es; vómitos y diarrea de hasta 2 días de duración, sin fiebre, con necesidad de hidratación sin antibióticos.<sup>25</sup>

El *S. aureus* se aísla con facilidad, pues no requiere métodos especiales para toma de muestras para diagnóstico. El examen mediante la tinción de Gram, muestra cocos Gram (+) agrupados en racimos. Crece en medios sólidos de uso común con formación de colonias en 18-24 horas, y en medios líquidos convencionales. Una vez aislado, la identificación se realiza mediante pruebas bioquímicas específicas, como la coagulasa (para diferenciar de la coagulasa negativos). Existen técnicas rápidas de identificación, como la hemaglutinación o aglutinación en látex, la coagulasa ligada o la proteína A. En casos de encontrar bacterias en sangre, el germen se desarrolla en 18-24 horas en medios habituales de hemocultivo, y la mayoría de los sistemas de identidad bacteriana solucionan cualquier problema de identificación. Mediante técnicas comerciales, tipo ELISA o de aglutinación, puede detectarse la capacidad de *S. aureus* de producir toxinas.<sup>26</sup>

Mediante técnicas de PCR se pueden detectar también los genes que las codifican. Así, se ha descrito la identificación rápida de *S. aureus* en muestras clínicas (utilizando genes de la especie) mediante amplificación genética como la PCR1-4. En ocasiones es necesario conocer la relación clonal de las cepas. Para la tipificación del *S. aureus* existen técnicas fenotípicas y genotípicas. Dentro de las primeras, el sistema más desarrollado es fagotipia, cuyo empleo ha disminuido por la aparición de técnicas moleculares.<sup>27</sup>

Entre la gran variabilidad de las técnicas genotípicas destaca el análisis del ADN cromosómico mediante restricción y separación de los fragmentos en una electroforesis con campo eléctrico pulsante (ECP), que ofrece un alto grado de discriminación, pero cuya principal limitación ha sido la dificultad de estandarización de las condiciones entre diferentes centros. Una técnica para el análisis del ADN por secuenciación es la clasificación mediante secuenciación multilocular, técnica diseñada y desarrollada para identificar clones y/o líneas clonales, de aplicación a largo plazo, para la identificación de grupos poblacionales.<sup>28</sup>

En relación con la Oxacilina, es un antimicrobiano del grupo de las cefalosporinas, que inhiben la proliferación in vitro del *Staphylococcus aureus*. Dentro de las cefalosporinas orales de primera generación, tenemos tres: cefadroxilo, oxacilina y cefradina. Las cefalosporinas constan de un anillo dihidrothiazina y otro betalactámico, que lo hace resistente a las penicilinasas producidas por el *staphylococo sp*. Estos antibióticos se unen a las proteínas fijadoras de penicilina, inhibiendo la tercera fase de la formación de la pared celular bacteriana. Una vez que se destruye la pared, el agua ingresa al espacio extracelular, con salida de elementos intracelulares. La Oxacilina ejerce acción antibacteriana al inhibir la síntesis de la pared celular del germen.<sup>29</sup>

La resistencia intrabacteriana a las cefalosporinas ocurre por inactivación de betalactamasas, alteración de permeación de la pared celular, alteración estructural de la proteína fijadora de penicilina y resistencia a las cefalosporinas mediadas por plásmidos. Las cefalosporinas se absorben por todas las vías, y se difunden por todos los tejidos. La eliminación se realiza fundamentalmente por vía renal. El efecto adverso más común es la hipersensibilidad y depende de la estructura betalactámica. Se observan reacciones como anafilaxia, broncoespasmo y urticaria.<sup>30</sup>

Se utiliza comúnmente para el tratamiento de infecciones respiratorias, ITU, fracturas abiertas, heridas infectadas, abscesos, infecciones otorrinolaringológicas. Es administrada por vía oral y su espectro de acción incluye *Streptococos hemolíticos*, *Neumococos*, *Klebsiella*, *Gonococos*, *E. coli* y *Estafilococos* resistentes y no resistentes a las penicilinas.<sup>31</sup>

## 1.4 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿El extracto etanólico de la hoja de *Salvia officinalis* (Salvia) tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina a 1 µg, en un estudio in vitro?

## 1.5 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La importancia del presente trabajo de investigación radica en la contribución a la búsqueda de nuevos conocimientos para el tratamiento alternativo o coadyuvante contra el microorganismo en estudio. Es relevante porque existe poca información con respecto a estudios locales y nacionales sobre la actividad antibacteriana de *Salvia officinalis* contra *S. aureus*; las patologías causadas por *S. aureus* constituyen un serio problema de salud en nuestro país; debido a que la bacteria genera nuevos mecanismos de defensa, provocando así una gran resistencia bacteriana.

La resistencia bacteriana es debido al uso descontrolado de antibióticos sin prescripción médica, esto incrementa el desarrollo de patógenos resistentes a medicamentos de primera línea como la Oxacilina; esto promueve el uso de medicamentos de segunda y tercera línea que son más costosos y poseen más reacciones adversas; esta resistencia bacteriana prolonga la estancia hospitalaria y aumenta la tasa de mortalidad.

Es nuestro interés conocer otros tratamientos que sean eficaces, que produzcan menos reacciones adversas, que sean accesibles a toda la población en general. Es por esto que se propuso realizar el presente trabajo de investigación deseando plantear un tratamiento alternativo o coadyuvante del extracto etanólico de *Salvia officinalis* como agente antibacteriano sobre cepas de *S. aureus*, así mismo esto podría reducir los costos en comparación con los antibióticos sistémicos y así se erradicaría el agente bacteriano en pacientes de manera satisfactoria. El resultado de esta investigación nos servirá como guía, referencia y antecedente para generar nuevas investigaciones o estudios que deseen analizar la misma línea de investigación.

## 1.6 HIPÓTESIS

- $H_1$ : La *Salvia officinalis* (Salvia) tiene efecto antibacteriano sobre el *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina a 1  $\mu\text{g}$ , en un estudio in vitro.
- $H_0$ : La *Salvia officinalis* (Salvia) no tiene efecto antibacteriano sobre el *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina a 1  $\mu\text{g}$ , en un estudio in vitro.

## 1.7 OBJETIVOS

### 1.7.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de *Salvia officinalis* (salvia) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina a 1  $\mu\text{g}$ , en un estudio in vitro.

### 1.7.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de *Salvia officinalis* a una concentración del 100%.
- Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de *Salvia officinalis* a una concentración del 75%
- Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de *Salvia officinalis* a una concentración del 50%
- Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de *Salvia officinalis* a una concentración del 25%
- Determinar el efecto antibacteriano de la oxacilina a 1  $\mu\text{g}$ .

## II. MÉTODO

### 2.1 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN Y TIPO DE INVESTIGACIÓN

**TIPO DE INVESTIGACIÓN:** Básico

**DISEÑO DE INVESTIGACION:** Experimental con repeticiones múltiples, post prueba.

<b>RG<sub>1</sub></b>	<b>X<sub>1</sub></b>	<b>O<sub>1</sub></b>
<b>RG<sub>2</sub></b>	<b>X<sub>2</sub></b>	<b>O<sub>2</sub></b>
<b>RG<sub>3</sub></b>	<b>X<sub>3</sub></b>	<b>O<sub>3</sub></b>
<b>RG<sub>4</sub></b>	<b>X<sub>4</sub></b>	<b>O<sub>4</sub></b>
<b>RG<sub>5</sub></b>	<b>X<sub>5</sub></b>	<b>O<sub>5</sub></b>
<b>RG<sub>6</sub></b>	<b>X<sub>6</sub></b>	<b>O<sub>6</sub></b>

Dónde:

RG<sub>1-6</sub>: Grupos de estudio

X<sub>1</sub>: Extracto etanólico de la hoja de *Salvia officinalis* “*Salvia*” al 100%

X<sub>2</sub>: Extracto etanólico de la hoja de *Salvia officinalis* “*Salvia*” al 75%

X<sub>3</sub>: Extracto etanólico de la hoja de *Salvia officinalis* “*Salvia*” al 50%

X<sub>4</sub>: Extracto etanólico de la hoja de *Salvia officinalis* “*Salvia*” al 25%

X<sub>5</sub>: Control Positivo: Oxacilina 1 µg

X<sub>6</sub>: Control negativo: Dimetil Sulfóxido (DMSO)

O<sub>1-6</sub>: Las observaciones del diámetro del halo de inhibición

### 2.2 VARIABLES Y OPERALIZACIÓN

**VARIABLE INDEPENDIENTE:** Agente antibacteriano

- **Agente antibacteriano no farmacológico:** Extracto etanólico de la hoja de *Salvia officinalis* “*salvia*”
- **Agente antibacteriano farmacológico:** Oxacilina a 1 µg

**VARIABLE DEPENDIENTE:** Efecto antibacteriano

- **Si efecto antibacteriano:** halo de inhibición  $\geq 13$  mm
- **No efecto antibacteriano:** halo de inhibición  $<13$  mm

**OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES:**

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
V. I: Agente antibacteriano	Agente antibacteriano no farmacológico: <i>Salvia officinalis</i> “ <i>Salvia</i> ”. <sup>6,11</sup>  Agente antibacteriano farmacológico: Oxacilina. <sup>30</sup>	La <i>Salvia officinalis</i> “ <i>Salvia</i> ”. fue dividida en las siguientes concentraciones: - 100% - 75% - 50% - 25% - Oxacilina 1 $\mu$ g - Dimetil Sulfóxido (DMSO)	RG1  RG2  RG3  RG4  RG5  RG6	Cualitativa nominal
V. D: Efecto antibacteriano	Se medirá mediante el incremento del halo de inhibición por medio del método Kirby-Bauer. <sup>35</sup>	Se considera:  Sensible: $\geq 13$ mm  Intermedio: 11 - 12 mm  Resistente: $\leq 10$ mm <sup>34</sup>	Si efecto antibacteriano: ( $\geq 13$ mm)  No efecto antibacteriano: ( $<13$ mm)	Cualitativa nominal

## 2.3 POBLACIÓN Y MUESTRA

**POBLACION:** Estuvo constituida por todas las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 cultivadas en el laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo.

### **MUESTRA:**

#### **Tamaño muestra:**

Por tratarse de un trabajo experimental se empleó la formula estadística de diferencia de promedio sobre halos de inhibición, para hallar el número de placas necesarias que validen la investigación. Se obtuvo el número de 13 repeticiones por cada dilución y grupos control.<sup>32</sup> **(ver anexo 01)**

**Unidad de análisis:** Cada uno de los cultivos de cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

**Unidad de muestra:** Cada placa Petri con cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

**Muestreo:** Se estudian todas las cepas cultivadas.

**CRITERIOS DE SELECCIÓN:** fueron

#### **Criterios de inclusión:**

- Placas Petri con cultivos viables.
- Cepas cultivadas de 18 -24 horas.

#### **Criterios de exclusión:**

- Cepas que no crecieron en el medio de cultivo.
- Cepas o muestra contaminada.



## 2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD

### LA TÉCNICA:

Se consideró la observación directa del crecimiento bacteriano de los cultivos en las placas Petri.

### PROCEDIMIENTO: (ver anexo 02)

- a) Tipificación de la planta; la muestra de “Salvia” fue adquirida en el vivero de la Universidad Nacional Agraria La Molina departamento de Lima, provincia de Lima, distrito de La Molina, y luego fueron trasladadas al Herbario del Departamento de Biología de la Universidad Nacional Agraria La Molina (MOL) para su identificación y certificación.
- b) Se obtuvo el extracto etanólico de *Salvia officinalis* mediante la técnica de maceración en etanol de 96<sup>o</sup>.<sup>33</sup> **(ver anexo 03)**
- c) Para evaluar la susceptibilidad antibacteriana, se utilizó el medio de cultivo agar Müller-Hinton, para el cultivo de la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, de acuerdo con el Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión<sup>34</sup> **(ver anexo 04)**
- d) Se evaluó la sensibilidad antibacteriana mediante el método de disco difusión Kirby–Bauer, siguiendo las normas y procedimientos establecidos en los estándares M02-A12 <sup>35</sup> y M100-S28 del CLSI. <sup>36</sup> **(ver anexo 05)**

### INSTRUMENTO:

El instrumento que se utilizó fue la ficha de recolección de datos que consistió en observar las placas, diluciones y halos de inhibición a las 48 horas. **(Ver anexo 06)**

## **VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO**

El instrumento fue validado por 3 profesionales médicos del área de microbiología que garantizaron que la información recolectada estuviera acorde con los objetivos de la investigación.

### **2.5 MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS**

La información obtenida fue tabulada en una ficha Microsoft Excel 2016, luego se analizó en el programa SPSS versión 25.0 y para los gráficos se utilizó el diagrama de cajas o bigotes.

Se aplicó la prueba estadística para homogenizar la muestra y luego análisis de varianza (ANOVA), para evaluar la diferencia significativa entre los diámetros.

El análisis post ANOVA Tukey permitirán identificar la dilución con la que se obtendrá el mayor tamaño de halo de inhibición.

### **2.6 ASPECTOS ÉTICOS:**

En el estudio se consideró las medidas de bioseguridad en el laboratorio dadas por el Ministerio de Salud.<sup>37</sup> Así mismo se considerará la aprobación del Comité de Investigación de la Facultad De Ciencias Médicas de la Universidad César Vallejo de Trujillo.

En el presente trabajo se respetó el principio de ética adoptado en el capítulo 6 de código de ética del Colegio Médico del Perú, especialmente el 6 art 48.<sup>38</sup>

### III. RESULTADOS

**TABLA 01: Efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Salvia officinalis* “salvia” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina a 1 µg en un estudio in vitro**

Diámetro del halo de inhibición								
Tratamiento	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Extracto etanólico de <i>Salvia officinalis</i> al 100%	13	15.62	.650	.180	15.22	16.01	15	17
Extracto etanólico de <i>Salvia officinalis</i> al 75%	13	13.69	.480	.133	13.40	13.98	13	14
Extracto etanólico de <i>Salvia officinalis</i> al 50%	13	12.62	.506	.140	12.31	12.92	12	13
Extracto etanólico de <i>Salvia officinalis</i> al 25%	13	10.69	.480	.133	10.40	10.98	10	11
Oxacilina	13	27.85	.899	.249	27.30	28.39	27	29
<b>Total</b>	<b>65</b>	<b>16.09</b>	<b>6.166</b>	<b>.765</b>	<b>14.56</b>	<b>17.62</b>	<b>10</b>	<b>29</b>

*Fuente:* Reporte de resultados del SPSS Ver. 25

**TABLA 02: Efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Salvia officinalis* “salvia” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina a 1 µg en un estudio in vitro**

#### Análisis de varianza (ANOVA)

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	2410.062	4	602.515	1545.928	.000
Error	23.385	60	.390		
<b>Total</b>	<b>2433.446</b>	<b>64</b>			

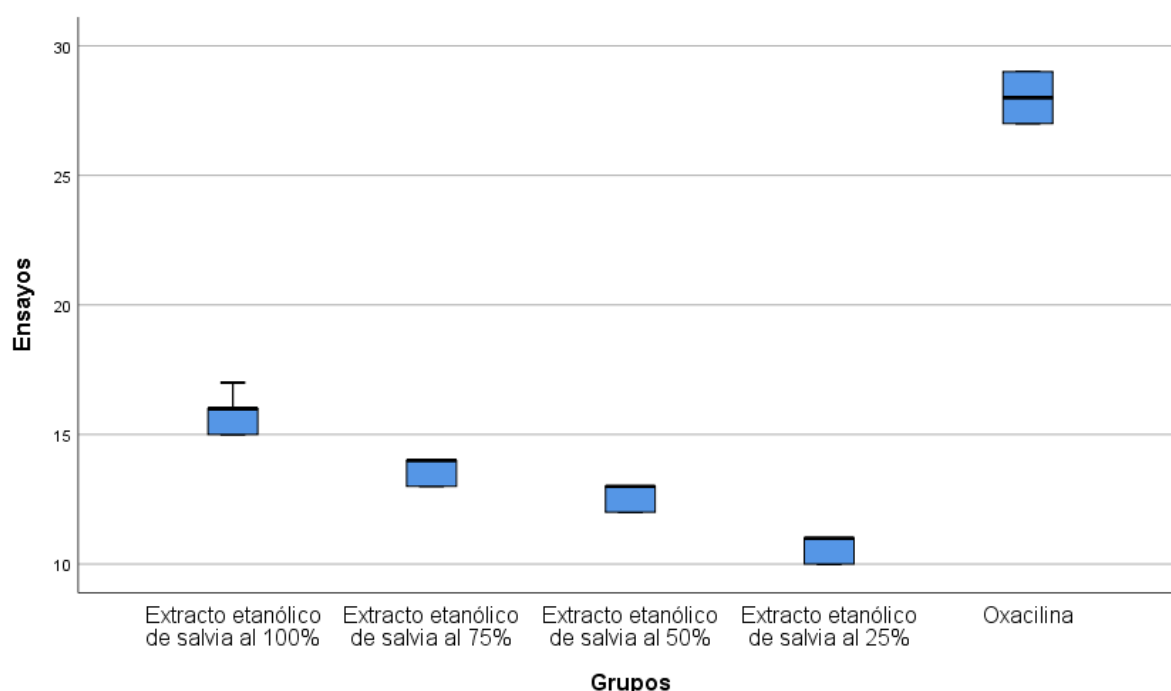
*Fuente:* Reporte de resultados del SPSS Ver. 25

**TABLA 03: Efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Salvia officinalis* “salvia” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina a 1 µg en un estudio in vitro**

**ANALISIS DE HOMOGENEIDAD: TUKEY**

Ensayos						
HSD Tukey <sup>a</sup>						
Grupos	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Extracto etanólico de <i>salvia</i> al 25%	13	10.69				
Extracto etanólico de <i>salvia</i> al 50%	13		12.62			
Extracto etanólico de <i>salvia</i> al 75%	13			13.69		
Extracto etanólico de <i>salvia</i> al 100%	13				15.62	
Oxacilina	13					27.85
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.						
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 13,000.						

**Fuente:** Reporte de resultados del SPSS Ver. 25



**Fuente:** Reporte de resultados del SPSS Ver. 25

**GRÁFICO 01: Efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Salvia officinalis* “salvia” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina a 1 µg en un estudio in vitro**

#### IV. DISCUSIÓN

Con el objetivo de evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Salvia officinalis* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina a 1 µg, en un estudio in vitro; donde se observó 13 placas con un total de 65 cultivos. En cada placa Petri se colocaron un total de 5 discos de los cuales 4 de ellos presentaban los extractos etanólicos de *Salvia officinalis* (salvia), a distintas concentraciones (100%,75%,50%,25%) y 1 disco de oxacilina como grupo control positivo (Tratamiento estándar) y Dimetil Sulfoxido (DMSO) como grupo control negativo. El DMSO no se lo consideró dentro de los datos estadísticos por tener un valor nulo en los 65 cultivos.

En relación al efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Salvia officinalis* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Tabla 01), se evidencio que el extracto etanólico de *Salvia officinalis*, a la concentración de 25% tiene un halo de inhibición de 10.69 mm (DS:0.480±0.133, IC95%:10.40-10.98) con un rango de 10 a 11 mm. A la concentración de 50% tiene un halo de inhibición de 12.62 mm (DS:0.506±0.140, IC95%:12.31-12.92) con un rango de 12 a 13 mm. Al 75% muestra un halo de inhibición de 13.69 mm (DS: 0.480±0.133, IC95%:13.40 -13.98) con un rango de 13 a 14 mm; siendo mayor el halo de inhibición a la concentración del 100% con 15.62 mm (DS:0.650±0.180, IC95%:15.22-16.01) con un rango de 15 a 17 mm y el grupo control de oxacilina, tuvo un halo de inhibición de 27.85 mm (DS:0.899±0.249, IC95%:27.30-28.39) con un rango de 27 a 29 mm.

Así mismo se observa que estadísticamente los resultados son altamente significativos (Tabla 02: ANOVA: 0.000) y homogéneos (Tabla 03, Test de Tukey). Sin embargo, al comparar los halos de inhibición con el patrón positivo de oxacilina, se observa que esta muestra valores mayores de halo de inhibición que la dilución al 100% (Gráfico 01) entre 27 a 29 mm de halo de inhibición.

Los resultados encontrados en esta investigación son similares a Et-touys A. et al <sup>6</sup> (Marruecos 2016), quienes encontraron que el extracto etanólico de *Salvia officinalis* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 tuvo un halo de  $19 \pm 0.24$  mm, más alta la concentración que la del presente estudio. Tofana M. et al <sup>7</sup> (Rumania, 2016) encuentra un halo de  $16.48 \pm 0.04$  mm. Khedher S. et al<sup>8</sup> (Túnez, 2016) reporta un diámetro de inhibición de  $14 \pm 1.41$  mm. El resultado encontrado en este estudio es el más próximo a lo que encontramos en nuestra investigación con 1.62 mm de diferencia entre los diámetros de halos de inhibición.

Sin embargo, Ardalan A. Shaabani M.<sup>11</sup> (Irán, 2012) encuentra un halo de 18 mm a una concentración de  $12.5 \mu\text{g/ml}$ , el cual según los estándares estaría clasificado en el rango de sensible. Mosafa E. et al<sup>10</sup> (Irán, 2014) identificaron la actividad antibacteriana del extracto de *Salvia officinalis* encontrándose que en *Staphylococcus aureus* el diámetro del halo de inhibición fue de 13.4 mm a una concentración de 400 mg/ml. Por último, Ghezelbash G. et al<sup>9</sup> (Irán, 2015) evidenciaron efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Salvia officinalis* sobre *Staphylococcus aureus* obteniendo un halo de 10 mm, menor que en nuestro estudio; por lo tanto, estaría en el rango de resistencia.

Finalmente se considera que las diferencias encontradas en los resultados de los antecedentes y los de nuestra investigación, se puede atribuir a múltiples factores como el clima, el tipo de suelo en la que se recolecta la muestra. Las condiciones antes mencionadas, determinan en las plantas la concentración de minerales, micronutrientes, entre otros elementos que son útiles al hombre, lo que explicaría la diferencia en los halos de inhibición en los diferentes países estudiados. Esta investigación es un aporte que permitirá contribuir a nuevos tratamientos contra *Staphylococcus aureus*.

## V. CONCLUSIONES

1. El extracto etanólico de *Salvia officinalis* tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
2. El extracto etanólico de *Salvia officinalis* muestra efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a concentraciones de 75% y 100%.
3. El extracto etanólico de *Salvia officinalis* muestra efecto antibacteriano muy bajo sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a concentraciones de 50% y 25%.
4. La Oxacilina a 1 µg tiene efecto antibacteriano sobre de cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, con un halo de inhibición de 27.85 mm

## VI. RECOMENDACIONES

1. Realizar otros tipos de preparados de *Salvia officinalis* para comparar con el extracto etanólico y determinar la efectividad de los diversos extractos o aceites, así como la variedad de su actividad antibacteriana sobre otros agentes patógenos.
2. Aislar los principios activos causantes de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Salvia officinalis*.
3. Realizar pruebas in vivo con animales de experimentación (*rattus rattus var albinus*) para valorar la efectividad y la toxicidad que puedan proporcionar los componentes activos de extracto etanólico de *Salvia officinalis*, así como la dosis terapéutica para la población humana.



## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud (OMS). Resistencia a los antimicrobianos. Nota descriptiva septiembre de 2010; Washington. 2016. [citado el 15 de noviembre del 2017]. Disponible en URL: <http://www.who.int/bulletin/volumes/88/11/10-031110/es/>
2. Steven Y. Joshua S. Thomas L. Vance G. *Staphylococcus aureus* Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. CrossMark. 2015; 28(3): 603–661. [citado el 20 de noviembre del 2017]. Disponible en URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4451395/>
3. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Informe anual de red de monitoreo/vigilancia de resistencia a antibióticos. Washington; D.C. 2009. [citado el 20 de noviembre del 2017]. Disponible en URL: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/minsa/1822.pdf>
4. Ministerio de salud (MINSA). Manejo de la prescripción y uso de antimicrobianos en la consulta ambulatoria de hospitales. Lima. 2007. [citado el 20 de noviembre del 2017]. Disponible en URL: [http://bvs.minsa.gob.pe/local/DIGEMID/836\\_DIGEMID57.pdf](http://bvs.minsa.gob.pe/local/DIGEMID/836_DIGEMID57.pdf)
5. Zhiming F. Wang H. Zhaolin S. Chunchao H. The Pharmacological Properties of Salvia Essential Oils. J APPL PHILOS. 2013; Vol 4: 544-553. [citado el 20 de noviembre del 2017]. Disponible en URL: [http://japsonline.com/admin/php/uploads/975\\_pdf.pdf](http://japsonline.com/admin/php/uploads/975_pdf.pdf)
6. Et-Touys A. Fellah H. Mniouil M. Bouyahya A. Dakka N. Antioxidant, Antibacterial and Antileishmanial Activities of *Salvia officinalis* L. Extracts from Morocco. BRIT MED J. 2016. 16(5): 1-10. [Citado el 20 noviembre del 2017]. Disponible en URL: [http://www.journalrepository.org/media/journals/BMRJ\\_8/2016/Aug/Touys\\_1652016BMRJ28307.pdf](http://www.journalrepository.org/media/journals/BMRJ_8/2016/Aug/Touys_1652016BMRJ28307.pdf)
7. Tofana M. Socaci A. Pop C. Rotar M. Salatan M. Determination of Antioxidant Capacity and Antimicrobial Activity of Selected Salvia Species.

Bulletin UASVM Food Science and Technology. 2016. [Citado el 20/11/2017]. Disponible en URL: <http://bioencapbread.com/wp-content/uploads/2016/11/Research-article-Ana-Cuceu-et-al..pdf>

8. Khedher S, Raâfet M, Chaieb I, Tounsi S, Hammami M. Chemical Composition and Biological Activities of *Salvia Officinalis* Essential Oil from Tunisia. EXCLI Journal 2016; vol 16:160-173 [Citado el 20/11/2017]. Disponible en URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28507464>
  
9. Ghezelbash G. Parishani R. Fouani H. Antimicrobial activity of *Salvia officinalis* acetone extract against pathogenic isolates. J HERB MED. 2015, Vol. 5: 215-218. [Citado el 20/11/2017]. Disponible en URL: [http://jhd.iaushk.ac.ir/article\\_13816.html](http://jhd.iaushk.ac.ir/article_13816.html)
  
10. Mosafa E. Yahyaabadi S. Doudi M. In-Vitro Antibacterial Properties of Sage (*Salvia officinalis*) Ethanol Extract against Multidrug Resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumonia*. J RES MED SCI. 2014; Vol 16(10): 42-46. [Citado el 20/11/2017]. Disponible en URL: [http://zjrms.ir/browse.php?a\\_code=A-10-2185-1&slc\\_lang=en&sid=1&sw=Antibacterial](http://zjrms.ir/browse.php?a_code=A-10-2185-1&slc_lang=en&sid=1&sw=Antibacterial)
  
11. Ardalan A, Shaabani M. Essential Oil Composition, Phenolic Content, Antioxidant and Antimicrobial Activity in *Salvia officinalis* L. Cultivated in Iran. ADV ENVIRON BIO RES. 2012; Vol 6(1): 221-246. [Citado el 20/11/2017]. Disponible en URL: [https://www.researchgate.net/publication/267037245\\_Essential\\_oil\\_composition\\_phenolic\\_content\\_antioxidant\\_and\\_antimicrobial\\_activity\\_in\\_Salvia\\_officinalis\\_L\\_cultivated\\_in\\_Iran](https://www.researchgate.net/publication/267037245_Essential_oil_composition_phenolic_content_antioxidant_and_antimicrobial_activity_in_Salvia_officinalis_L_cultivated_in_Iran)
  
12. Ortega T, Carretero M, Villar M. Salvia Fitoquímica, Farmacología Y Terapéutica. Departamento de Farmacología. Facultad de Farmacia. UCM.2002; Vol 17(7): 60-63. [Citado el 25 de mayo del 2017]. Disponible en URL: [www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-pdf-13034818-S300](http://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-pdf-13034818-S300)

13. Sánchez E, Pérez M, Chávez D, Rodríguez C. Caracterización farmacognóstica de *Salvia officinalis* L. CIDEM. Rev. cubana Plant Med. Cuba. Vol.10(1). 2005 [Citado el 25 de mayo del 2017]. Disponible en URL: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962005000100005](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962005000100005)
14. Porte A, Godoy R, Porte M. Chemical composition of Sage (*Salvia officinalis* L. essential oil from de Rio de Janeiro State, Rev Bras pl med, Campinas. 2013; 15(3): 438-441. Disponible en URL: <http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v15n3/18.pdf>
15. Ortega T, Carretero M, Villar A. Salvia: Fitoquímica Farmacología y terapéutica; Rev. Elsevier, 2002. Vol.16:59-64. [Citado el 25 de mayo del 2017]. Disponible en URL: <http://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-salvia-fitoquimica-farmacologia-terapeutica-13034818>
16. Kuklinski C. Farmacognosia estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. 1º edición. Barcelona: Omega; 2000.
17. Cervantes E, García R, Salazar P, Características generales del Staphylococcus aureus. Rev Latinoam Patol Clin Med Lab 2014; 61 (1): 28-40. Disponible en: <http://www.mediagraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>
18. Forbes B. Sanm D. Weissfeld A. Trevio E. Diagnostico microbiológico. 11º edición. Uruguay.: Editorial Medica Panamericana; 2004.
19. Murray P. Rosenthal K. Pfaller M. Microbiología médica. 6º edición. Barcelona, España: Elsevier Masson; 2009.
20. Zendejas G, Avalos H, Soto M. Microbiología general de Staphylococcus aureus: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. Rev Biomed 2014; 25:129-143.
21. Seija V. Género Staphylococcus. En. Carballal J, editor. Etiopatogenia microbiológica. España: Médica panamericana; 2008. P. 257 - 264

22. Benetti J. Dolin R. Blaser M. Enfermedades infecciosas principios y práctica. vol 2. 8º edición. Barcelona, España: Elsevier Masson; 2015.
23. Noguera A. Saavedra J. Nuñez E. Infectología pediátrica avanzada. 1º edición. Madrid: Editorial Medica Panamericana; 2014.
24. Balasini C. Reina R. Candela M. Infectología crítica manejo de la patología infecciosa en el paciente grave. 1º edición. Buenos aire, Argentina: Editorial Medica Panamericana; 2014.
25. Southwick Enfermedades infecciosas. 2º edición. México D.F: Mc Graw Hill; 2008.
26. Longo D. Kasper D. Jomson J. Fousi A. Houser S. Loscalzo J. Harrison principios de medicina interna. Vol 3. 18º edición. México D.F: Mc Graw Hill; 2008.
27. Goldman L. Ausiello D. Cecil tratado de medicina interna. Vol 2. 23º edición. Barcelona, España: Elsevier Masson; 2009.
28. Donarus A. Farreras P. Rozman C. Cardelach F. Medicina interna. 17º edición. Barcelona, España: Elsevier Masson; 2012.
29. Flores J. Armijo J. Mediavilla A. Farmacología Humana. 5º edición. Barcelona, España: Elsevier Masson; 2008.
30. Lorenzo P. Moeno A. Leza J. Lizasoain I. Velasquez farmacología básica y clínica. 17º edición. Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana; 2005.
31. Hardman J. Linbird L. Molinoff P. Ruddon R. Gilman A. Las Bases farmacológicas de la terapéutica. 9º edición. México D.F: Mc Graw Hill; 2005.
32. Dawson B. Trapp R. Bioestadística Médica, 4ta. ed. México: Manual Moderno; 2005
33. Carrión AV y García CR. Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de metódica. [Tesis de titulación]. Cuenca,

Ecuador: Universidad de Cuenca; 2010. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2483/1/tq1005.pdf>

34. Ministerio de Salud del Perú. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud; 2002. [citado: 20 de mayo del 2017]. Disponible en URL: [http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/1/manua\\_l%20sensibilidad.pdf](http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/1/manua_l%20sensibilidad.pdf)
35. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard–Twelfth Edition. CLSI document M02-A12. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015. Disponible en: <http://www.facm.ucl.ac.be/intranet/CLSI/CLSI-2015-M02-A12-original.pdf>
36. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Wayne PA 19087. USA 28th ed. CLSI Supplement M100-S26; 2018. [citado: 20 de mayo del 2018]. Disponible en URL: <http://www.facm.ucl.ac.be/intranet/CLSI/CLSI-2017-M100-S27.pdf>
37. Ministerio de Salud del Perú. Manual de procedimientos bioseguridad en laboratorios de ensayo, biomédicos y clínicos. Lima: Ministerio de salud, Instituto Nacional de Salud; 2005. [citado: 20 de mayo del 2017]. Disponible en URL: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/minsa/1669.pdf>
38. Colegio Médico del Perú. Código de Ética y Deontología. Lima [Perú]: CMP; 2007. [citado: el 15 de junio del 2017]. Disponible en URL: [http://cmp.org.pe/wp-content/uploads/2016/05/ley\\_creacion\\_cmp.pdf](http://cmp.org.pe/wp-content/uploads/2016/05/ley_creacion_cmp.pdf)

## VIII. ANEXOS

### ANEXO 01

$$n = \frac{(z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2\sigma^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

$$Z_{\frac{\alpha}{2}} = 1.96$$

$$Z_{\beta} = 0.84$$

$\bar{x}_1$ : = 13 mm <sup>34</sup> Diámetro del halo de inhibición de la Oxacilina

$\bar{x}_2$ : = 14mm - Diámetro del halo de inhibición del Extracto etanólico de *Salvia officinalis* según Khedher S. et al<sup>8</sup>

$$\sigma: 1.41^8$$

n = 12,46 ≈ 13 Placas Petri para cada grupo.

Teniendo en cuenta 4 diluciones, y el antibiótico, se multiplica por 5, por lo que: n = 13 X 5 = 65 (número total de observaciones)

## ANEXO 02

### Determinación Taxonómica de *Salvia officinalis* por el HERBARIO MOL - Augusto Weberbauer de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Agraria La Molina LIMA – PERU



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
Departamento Académico de Biología



La Molina, 25 de septiembre de 2018

#### CONSTANCIA 015-2018-HM-UNALM

Mediante la presente se informa que la muestra de “Salvia” adquirida en el vivero de la Universidad Nacional Agraria La Molina (departamento de Lima, provincia de Lima, distrito de La Molina) y remitida por el Sr. Víctor Espinoza Gómez, correspondiente al proyecto de investigación «Efecto Antibacteriano del Extracto Etanólico de la Hoja de *Salvia officinalis* “salvia” sobre Cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Comparado con Oxacilina, Estudio In Vitro», ha sido estudiada en el Herbario del Departamento de Biología de la Universidad Nacional Agraria La Molina (MOL) para su determinación taxonómica. El examen y reconocimiento de los caracteres morfológicos de orden cualitativo y cuantitativo en tal espécimen permiten concluir que corresponde a la especie *Salvia officinalis* L. de la familia Lamiaceae.


La clasificación taxonómica de la especie según el sistema APG IV (Angiosperm Phylogeny Group, 2016) es la siguiente:

Clado	:	angiospermas (Angiospermae)
Clado	:	mesangiospermas (Mesangiospermae)
Clado	:	eudicotiledóneas (Eudicotyledoneae)
Clado	:	gunneríidas (Gunneridae)
Clado	:	pentapétalas (Pentapetalae)
Clado	:	superastéridas
Clado	:	astéridas
Clado	:	euastéridas (genciánidas)
Clado	:	lámidas
Orden	:	Lamiales
Familia	:	Lamiaceae
Género	:	<i>Salvia</i> L.
Especie	:	<i>Salvia officinalis</i> L.

Atentamente,

  
**Mercedes Flores Pimentel**  
Jefe  
Herbario del Dpto. de Biología (MOL)  
Facultad de Ciencias  
Universidad Nacional Agraria La Molina



  
**Arturo Granda Paucar**  
Investigador Adjunto  
Herbario del Dpto. de Biología (MOL)  
Facultad de Ciencias  
Universidad Nacional Agraria La Molina

### ANEXO 03

#### Obtención del extracto etanólico de *Salvia officinalis*, mediante el método de maceración en etanol <sup>33</sup>

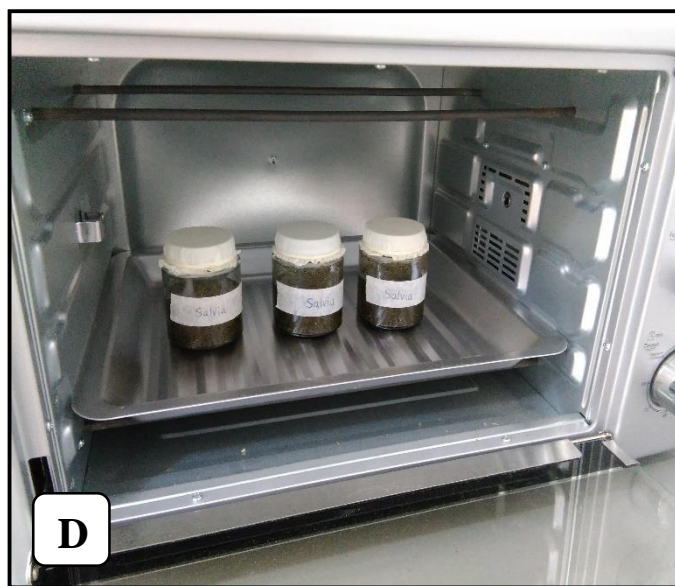
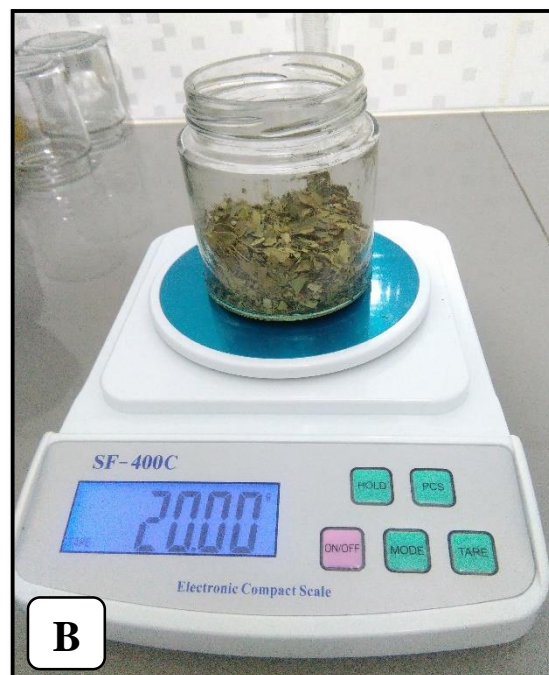
##### 1. Tratamiento de la muestra vegetal

Las plantas frescas de *Salvia officinalis* “salvia”, se obtuvieron en el vivero de la Universidad Nacional Agraria La Molina, procedentes de la ciudad de Lima, en una cantidad de 2 Kg aproximadamente, una vez que se hizo la selección y la identificación de la planta luego se transportó hacia el laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo de Trujillo, donde se seleccionaron las hojas con buenas condiciones; de este modo, se obtuvo la “muestra fresca” (MF). La MF se lavó con agua destilada clorada, se colocó sobre una bandeja de cartulina y se llevó a un horno a 40-45°C por 3-4 días donde se deshidrató. Después, se estrujó manualmente el vegetal seco hasta que se obtuvo partículas muy pequeñas y se reservó almacenándolas herméticamente en bolsas negras. A esto se le consideró como “muestra seca” (MS).



Planta - *Salvia officinalis* “salvia”





**Proceso de obtención del extracto etanólico de hojas de *salvia officinalis* “salvia”.**

- A.** Lavado y secado de las hojas de la planta y listas para Deshidratarlas en el horno.
- B.** Pesado de las hojas (20g), Deshidratadas y pulverizadas.
- C.** Adición de alcohol 96°
- D.** Macerado por 4 días a 45° de temperatura

## 2. Obtención del extracto etanólico

El extracto etanólico de *Salvia officinalis* se obtuvo por el método de maceración en etanol de 96°; para ello, se colocó en un frasco de vidrio 20 g de MS y 100 ml de etanol, se tapó el frasco herméticamente y se cubrió totalmente con papel aluminio. Luego, se dejó en lugar fresco y seco, a temperatura ambiente, por 8 días con agitación de 3 a 4 veces diarias. Después, se hizo una doble filtración. Primero se filtró a través de una gasa estéril y segundo a través de un papel filtro Whatman N°41. Este filtrado, se evaporó por ventilación con corrientes de aire frío en circuito cerrado en estufa, por 2 días, hasta que quede a una concentración mayor a 100 mg/mL. De este modo, se obtuvo el extracto etanólico (EE) considerado al 100%; el cual, se reservó en un frasco de vidrio ámbar a 6°C hasta su utilización.



**A.** Filtrado de la maceración

**B.** Determinación de las concentraciones del extracto etanólico de *Salvia officinalis*: **1)** 65 mg/ml; **2)** 70mg/ml; **3)** 75mg/ml; promedio 70 mg/ml



## ANEXO 04

### 3. Preparación del medio de cultivo<sup>34</sup>

Se utilizó agar Müeller-Hinton como medio de cultivo. Se preparó suficiente medio para 13 placas Petri. Este medio de cultivo se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 minutos. Después, se sirvió en Placas Petri estériles de plástico desechables, 18-20 ml por cada placa, y se dejó reposar hasta que solidificó completamente.



A. Siembra de la bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

B. Preparación de las diferentes diluciones del extracto etanólico de *Salvia officinalis* (100%, 75%, 50%, 25%) y control positivo (oxacilina)

## ANEXO 05

### 4. Prueba de susceptibilidad (Prueba de Disco difusión en agar)

Se evaluó utilizando el método de Kirby-Bauer de disco difusión en agar. Para ello, se consideró los criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI de Estados Unidos de América. Se tomó en cuenta los estándares M02-A12 y M100-S28.

#### a) Preparación del inóculo

El inóculo se preparó colocando 3-4 ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo estéril, al cual se le adicionó una alícuota del microorganismo *Staphylococcus aureus*, cultivado hace 18-20 horas, de tal modo que se observó una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de McFarland ( $1,5 \times 10^8$  UFC/ml aprox.)

#### b) Siembra del microorganismo

Se sembró el microorganismo *Staphylococcus aureus*, embebiendo un hisopo estéril en el inóculo y deslizándolo sobre toda la superficie del medio de cultivo en las Placas Petri (siembra por estrías en superficie); de tal modo, que el microorganismo quedó como una capa en toda la superficie.

#### c) Preparación de las concentraciones del EE

A partir del EE, se prepararon 4 concentraciones (100%, 75%, 50% y 25%) utilizando como solvente Dimetil Sulfóxido (DMSO); para ello, se rotularon 4 tubos de ensayo de 13x100mm estériles con las 4 concentraciones y se colocó 750  $\mu$ L de EE y 250  $\mu$ L de DMSO al tubo de 75%, 500  $\mu$ L de EE y 500  $\mu$ L de DMSO al tubo de 50%, y 250  $\mu$ L de EE y 750  $\mu$ L de DMSO al tubo de 25%.

#### d) Preparación de los discos de sensibilidad con EE

A partir de cada una de las concentraciones, se colocó 10  $\mu$ L en cada disco de papel filtro Whatman N° 1 de 6mm de diámetro, previamente esterilizados. Se tomó 10  $\mu$ L de EE al 25% y se colocó en un disco, 10  $\mu$ L de EE al 50% en otro disco, 10  $\mu$ L de EE al 75% en otro disco y 10  $\mu$ L de EE al 100% en otro disco. Esto se repitió por 13 veces.

e) **Confrontación del microorganismo con el agente antimicrobiano**

Con la ayuda de una pinza metálica estéril, se tomaron los discos de sensibilidad preparados, uno de cada concentración con EE, y se colocaron en la superficie del agar sembrado con el microorganismo *Staphylococcus aureus*, de tal modo que quedaron los discos (uno de cada concentración) a un cm del borde de la Placa Petri y de forma equidistante. Adicionalmente, se colocó el disco con oxacilina 1µg (control positivo). Se dejaron en reposo por 15 min y después las placas se incubaron de forma invertida en la estufa a 35-37°C por 18-20 horas.

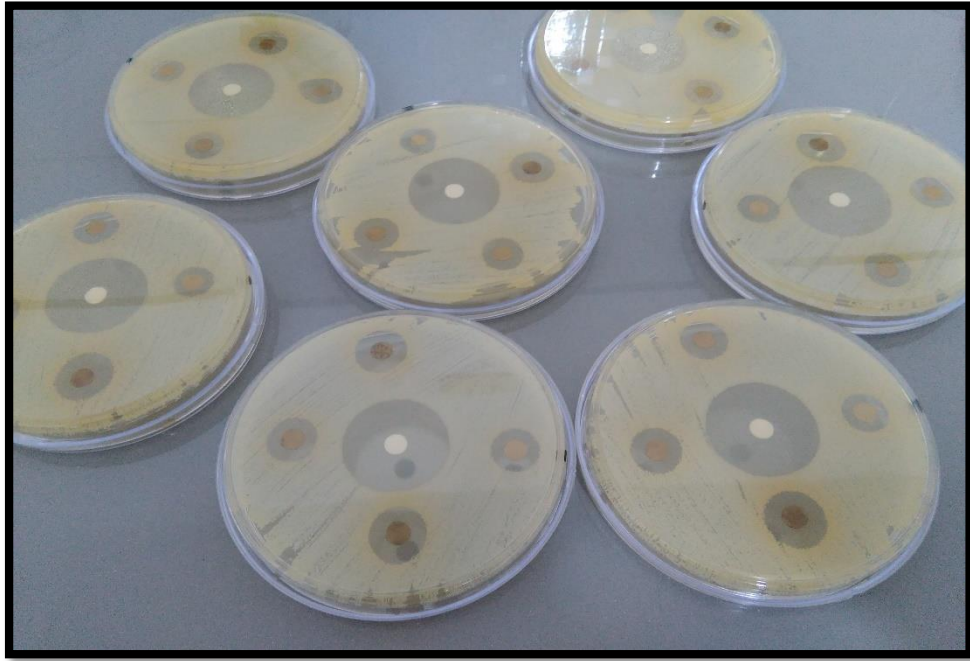
f) **Lectura e interpretación**

La lectura se realizó observando y midiendo con una regla Vernier, el diámetro de la zona de inhibición de crecimiento microbiano. Esta medición se realizó para cada una de las concentraciones de EE de *Salvia officinalis* y para la oxacilina. Se interpretó como sensible o resistente, según lo establecido en el Estándar M100-S28 del CLSI.

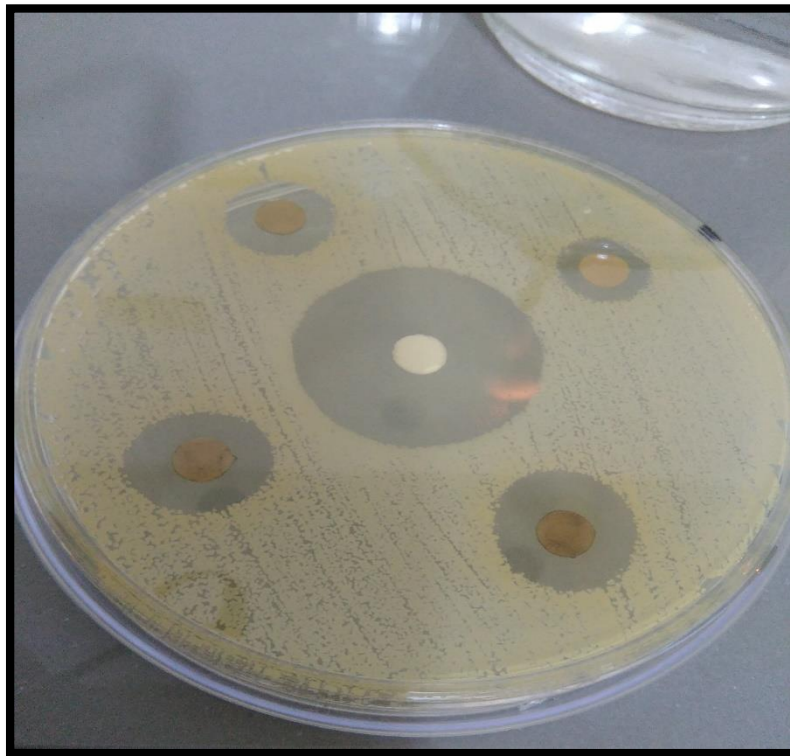


A. Preparación de los discos de sensibilidad

B. Confrontación del extracto etanólico *Salvia officinalis* Contra cepas de *S. aureus*



Halos de inhibición de crecimiento de *Staphylococcus aureus* frente a diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Salvia officinalis* “salvia” y control positivo (oxacilina)



Halos de inhibición después de incubación a 37°C por 24 horas





## FICHA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

ÍTEM	CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LA VALIDEZ				CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS ESPECÍFICOS							
	CONTENIDO (Se refiere al grado en que el instrumento refleja el contenido de la variable que se pretende medir)		CONSTRUCTO (Hasta donde el instrumento mide realmente la variable, y con cuanta eficacia lo hace)		RELEVANCIA (El ítem es esencial o importante, es decir, debe ser incluido)		COHERENCIA INTERNA (El ítem tiene relación lógica con la dimensión o el indicador que está midiendo)		CLARIDAD (El ítem se comprende fácilmente, es decir, sus sintácticas y semánticas son adecuadas)		SUFICIENCIA (Los ítems que pertenecen a una misma dimensión bastan para obtener la dimensión de esta)	
	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO
1	X		X		X		X		X		X	
2	X		X		X		X		X		X	
3	X		X		X		X		X		X	

CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS GENERALES				SI	NO	OBSERVACIONES
El instrumento contiene instrucciones claras y precisas para responder la ficha de cotejos				X		
Los ítems permiten el logro del objetivo de la investigación				X		
Los ítems están distribuidos en forma lógica y secuencial				X		
El número de ítems es suficiente para recoger la información. En caso de ser negativa la respuesta sugiera los ítems a añadir				X		
VALIDEZ						
APLICABLE		✓ NO APLICABLE		APLICABLE TENIENDO EN CUENTA OBSERVACIÓN		

Validado por

Fecha:

Firma y sello  
Dr. Pedro Lezama Asencio  
CBP 1239

Firma y sello  
Dra. María Ayala Ravelo  
CBP 1206  
María S. Ayala Ravelo  
Doctora en Salud Pública  
Docente Facultad Medicina  
U.N.T

Firma y sello  
Dr. Steve T. Huicho Escamilla  
MICROBIOLOGO CLINICO  
Especialista en Análisis Clínicos y Biotecnología  
CBP 1234 CBPSE-0032  
RED ASISTENCIAL LA LIBERTAD

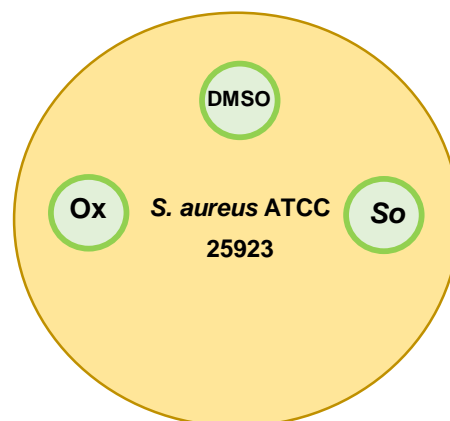
**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA MEDIR EL TAMAÑO DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN (mm) SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

<b>PATOGENO</b> <i>Staphylococcus</i> <i>Aureus</i> ATCC 25923	<b>CONCENTRACION DEL</b> <b>EXTRACTO ETANÓLICO DE</b> <i>Salvia officinalis</i> “salvia”				<b>CONTROL</b> <b>POSITIVO</b>	<b>CONTROL</b> <b>NEGATIVO</b>
	100%	75%	50%	25%	OXACILINA 1ug	Dimetil Sulfóxido (DMSO)
	<b>Diámetro del halo de inhibición (mm)</b>					
PLACA 1	17	14	13	11	27	0
PLACA 2	16	13	13	11	29	0
PLACA 3	15	13	14	12	27	0
PLACA 4	15	14	12	10	27	0
PLACA 5	14	13	13	11	29	0
PLACA 6	16	15	13	11	28	0
PLACA 7	15	13	13	12	29	0
PLACA 8	16	14	13	11	27	0
PLACA 9	16	14	14	12	28	0
PLACA 10	15	12	12	11	27	0
PLACA 11	16	15	13	11	29	0
PLACA 12	15	14	13	10	27	0
PLACA 13	16	14	13	11	28	0
<b>Promedio del</b> <b>diámetro del halo</b> <b>de inhibición</b>	<b>16</b>	<b>14</b>	<b>13</b>	<b>11</b>	<b>28</b>	<b>0</b>

Placas petri con cultivo de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

LEYENDA
Ox: Oxacilina
So: <i>Salvia officinalis</i>
DMSO: Dimetil Sulfóxido





## ANEXO 08

### Pruebas Post-hoc

Comparaciones multiples						
Variable dependiente: Diámetro del halo de inhibición HSD Tukey						
(I) Tratamientos	(J) Tratamientos	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
<b>Extracto etanólico de <i>Salvia officinalis</i> al 100%</b>	Extracto etanólico de salvia al 75%	1.923*	.245	.000	1,23	2,61
	Extracto etanólico de salvia al 50%	3.000*	.245	.000	2,31	3,69
	Extracto etanólico de salvia al 25%	4.923*	.245	.000	4,23	5,61
	OXACILINA	-12.231*	.245	.000	-12,92	-11,54
<b>Extracto etanólico de <i>Salvia officinalis</i> al 75%</b>	Extracto etanólico de salvia al 100%	-1,923*	.245	.000	-2,61	-1,23
	Extracto etanólico de salvia al 50%	1,077*	.245	.000	,39	1,77
	Extracto etanólico de salvia al 25%	3,000*	.245	.000	2,31	3,69
	OXACILINA	-14,154*	.245	.000	-14,84	-13,47
<b>Extracto etanólico de <i>Salvia officinalis</i> al 50%</b>	Extracto etanólico de salvia al 100%	-3,000*	.245	.000	-3,69	-2,31
	Extracto etanólico de salvia al 75%	-1,077*	.245	.000	-1,77	-,39
	Extracto etanólico de salvia al 25%	1,923*	.245	.000	1,23	2,61
	OXACILINA	-15,231*	.245	.000	-15,92	-14,54
<b>Extracto etanólico de <i>Salvia officinalis</i> al 25%</b>	Extracto etanólico de salvia al 100%	-4,923*	.245	.000	-5,61	-4,23
	Extracto etanólico de salvia al 75%	-3,000*	.245	.000	-3,69	-2,31
	Extracto etanólico de salvia al 50%	-1,923*	.245	.000	-2,61	-1,23
	OXACILINA	-17,154*	.245	.000	-17,84	-16,47
<b>OXACILINA</b>	Extracto etanólico de salvia al 100%	12,231*	.245	.000	11,54	12,92
	Extracto etanólico de salvia al 75%	14,154*	.245	.000	13,47	14,84
	Extracto etanólico de salvia al 50%	15,231*	.245	.000	14,54	15,92
	Extracto etanólico de salvia al 25%	17,154*	.245	.000	16,47	17,84

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

## ANEXO 09



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO



### CONSTANCIA DE ASESORÍA DE DESARROLLO DE TESIS

El que suscribe **MG. BLGO. POLO GAMBOA, JAIME ABELARDO**, Docente de la Facultad de Ciencias Médicas, Escuela Académico Profesional de Medicina.

#### CERTIFICA:

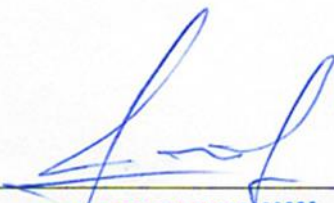
Que, de conformidad con el Reglamento para elaboración y evaluación de Proyectos de Tesis para obtener el Título Profesional Médico Cirujano, del alumno: **ESPINOZA GÓMEZ VÍCTOR**, de esta casa de estudios, está trabajando bajo mi asesoramiento la Tesis titulada:

#### **EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Salvia officinalis* "salvia" SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC25923 COMPARADO CON OXACILINA**

Que será presentado para optar el Título anteriormente mencionado.

En tal virtud, asumo el asesoramiento de dicho proyecto, en calidad de Asesor técnico, tarea voluntaria y de cooperación académica con la Escuela de Medicina.

Expedido el presente a solicitud de la parte interesada para los fines académicos que estime conveniente, la Ciudad de Trujillo a los 2 días del mes de agosto del 2018.



Jaime A. Polo Gamboa  
MICROBIOLOGO  
COP 8051

## ANEXO 10



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO



### CONSTANCIA DE ASESORÍA DE DESARROLLO DE TESIS

La que suscribe **DRA. LLAQUE SÁNCHEZ, MARÍA ROCÍO DEL PILAR**, Docente de la Facultad de Ciencias Médicas, Escuela Académico Profesional de Medicina.

#### CERTIFICA:

Que, de conformidad con el Reglamento para elaboración y evaluación de Proyectos de Tesis para obtener el Título Profesional Médico Cirujano, del alumno: **ESPINOZA GÓMEZ VÍCTOR**, de esta casa de estudios, está trabajando bajo mi asesoramiento la Tesis titulada:

#### **EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Salvia officinalis* "salvia" SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC25923 COMPARADO CON OXACILINA**

Que será presentado para optar el Título anteriormente mencionado.


En tal virtud, asumo el asesoramiento de dicho proyecto, en calidad de Asesor metodológico, tarea voluntaria y de cooperación académica con la Escuela de Medicina.

Expedido el presente a solicitud de la parte interesada para los fines académicos que estime conveniente, la Ciudad de Trujillo a los 31 días del mes de octubre del 2018.

DRA. MARÍA ROCÍO DEL PILAR LLAQUE SÁNCHEZ

## ANEXO 11


### CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO

**San Jose**  
LABORATORIO CLINICO  
*Calidad y profesionalismo el servicio de tu salud*

**CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO**

El Laboratorio "San José" deja constancia que ha prestado sus instalaciones, en donde el Sr. ESPINOZA GÓMEZ VÍCTOR, estudiante de Medicina de la Universidad César Vallejo de Trujillo, ejecutó la parte experimental de su proyecto de tesis titulado "Efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de *Salvia officinalis* "salvia" sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina, estudio in vitro", durante los días 27 al 31 de julio de 2018, bajo la orientación y asesoramiento del Microbiólogo Jaime Abelardo Polo Gamboa.

Se expide la presente a solicitud de la estudiante, sólo para fines académicos, a los 2 días del mes de agosto de 2018.

  
José Luis Callo Quevedo  
BIÓLOGO - MICROBIÓLOGO  
C.B.P. 6301

**Sede Principal: Francisco Bolognesi 678 Of. 203 - Centro Histórico - Trujillo**  
**Sucursales: Los Corales 277- Barrio Médico Urb. Santa Inés - Trujillo**  
☎ 769999 - ☎ 948649844  
✉ sanjoselabs@hotmail.com 🌐 www.sanjoselabs.amawebs.com/